

d. Jendrassik-Gróf 法の Michaëlsson 変法

(Scand. J. Clin. Lab. Invest., 13 (suppl. 56) : 1, 1961 ; Pediatrics, 35 : 925, 1965)

【原理】 Jendrassik-Gróf (J-G) 法は、間接ビリルビンの反応促進剤にメタノールの代わりに安息香酸塩-カフェインを使用し、ジアゾ反応後にフェーリング液を加えてアルカリゾビリルビンとし、その青色を比色する方法で、感度がよく、安定したビリルビン定量法である。Nosslin はジアゾ反応停止剤であるアスコルビン酸を使用して J-G 法の直接反応条件を正確に規定し、また Michaëlsson は総反応と盲検でみられる濁りを防ぐために促進剤ダイフィリンを使用し、またジアゾ呈色に及ぼすとして各試薬の影響を除くために最終反応液組成をすべて同一にするようにした。なお、アスコルビン酸の添加は、溶血による総ビリルビン値の低下を軽減させる。ここでは、Thompson (J. Clin. Pathol., 22 : 439, 1969) の変法について記した。

【試薬】 ① **ジアゾ試薬**：ジアゾ I 液と II 液 (583 頁参照) を 10 : 0.25 の割合に混合し、30 分以内に使用する。

② **ダイフィリン試薬**：ダイフィリン 20 g, 酢酸ナトリウム ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 50 g に水 400 ml を加え、30~40°C で溶解後冷却し過する。

③ **アスコルビン酸溶液**：アスコルビン酸 200 mg を水 5 ml に溶かす。毎日新調。

④ **フェーリング II 液**：水酸化ナトリウム 100 g, 酒石酸カリウム・ナトリウム 350 g に水を加えて 1 l とする。

⑤ **タンパク含有ビリルビン標準液**：Malloy-Evelyn 法参照。

【検量線】 タンパク含有ビリルビン標準液から各種濃度の標準液を作り、下記の総ビリルビン測定と同様に実施して、検量線を作成する。

操作	試料または試薬	添加量 (ml)
①	血清または同希釈液	1.0
②	ジアゾ試薬	0.5
③	ダイフィリン試薬	2.0
④	アスコルビン酸液	0.1
⑤	フェーリング II 液	1.5

【実施】 直接反応管 (d)・総反応管 (t)・盲検管 (b) の 3 本の試験管を用意し、前表の操作を所定の順序に実施する。

直接反応：①+②→10 分間放置→+④+③+⑤→吸光度測定 E_d
(波長 600 nm, 対照は盲検)

総反応：①+②→4 分間放置→+③→6 分間放置→+④+⑤→吸光度測定 E_t
(波長 600 nm, 対照は盲検)

盲検：①+④+②+③+⑤ E_b

【計算】 検量線から ($E_d - E_b$) および ($E_t - E_b$) に相当する濃度を読めば、直接ビリルビンおよび総ビリルビン量が求められる。

【注】 ① 血清ビリルビン量が 5 mg/dl 以下の場合、血清をそのまま用い、それ以上の場合 5~10 倍に水または生食水で希釈して実施する。

② 試薬添加順序は指定どおりに行い、添加のたびごとによく混和してから次の操作に移る。

③ アスコルビン酸は、ジアゾ試薬と反応するから、添加後できるだけ早くフェーリング液を加える。

④ 総反応では、ダイフィリンとジアゾ試薬が反応してアルカリ添加後に黄色調を呈するが、測定波長 600 nm ではほとんど影響がない。